

TNF- α 及其 I 型受体 (P55) 在翼状胬肉中的表达

吴兵, 杨建, 魏谨, 马平

作者单位: (211300) 中国江苏省南京市, 江苏建康学院附属南京市高淳人民医院眼科

作者简介: 吴兵, 男, 医学硕士, 主治医师, 江苏省医疗美容眼科主诊医师, 研究方向: 新生血管性眼病、白内障。

通讯作者: 吴兵. anywubing@qq.com

收稿日期: 2014-02-27 修回日期: 2014-04-29

Expression of tumor necrosis factor- α and receptor I (P55) in pterygium

Bing Wu, Jian Yang, Jin Wei, Ping Ma

Department of Ophthalmology, the Affiliated Gaochun People's Hospital of Jiankang College, Nanjing 211300, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Bing Wu. Department of Ophthalmology, the Affiliated Gaochun People's Hospital of Jiankang College, Nanjing 211300, Jiangsu Province, China. anywubing@qq.com

Received: 2014-02-27 Accepted: 2014-04-29

Abstract

• **AIM:** To observe the expression of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and its receptor I (P55) in different pterygium and discuss the role of TNF- α and receptor I (P55) in pterygium.

• **METHODS:** Immunohistochemical staining method (PV) was adopted to detect the expression of TNF- α and receptor I in pterygium (72 eyes) and para-terygium conjunctival tissue (30 eyes). The relationship between the expression and clinical-pathological parameters was also analyzed.

• **RESULTS:** The positive rates of TNF- α were 65.3% (47/72), 26.7% (8/30) in pterygium and para-terygium conjunctival tissue. The positive expression of TNF- α had statistic difference between the two groups ($\chi^2 = 12.706, P < 0.01$). The positive rates of TNF- α receptor I were 56.9% (41/72), 16.7% (5/30) in pterygium and para-terygium conjunctival tissue. The positive expression of P55 had statistic difference between the two groups ($\chi^2 = 13.875, P < 0.01$). The positive rate of TNF- α in recurrent pterygium group was higher than primary pterygium group ($\chi^2 = 6.547, P = 0.011$). There had no statistically significance of the expression intensity between the two groups ($F = 1.288, P = 0.393$); the positive rate in advanced pterygium group was higher than quiescent pterygium group ($\chi^2 = 4.082, P = 0.043$). The expression intensity had no statistically significance between the two groups ($F = 0.489, P = 0.708$). The positive rate of P55 in recurrent pterygium group was higher than primary pterygium group ($\chi^2 = 9.907, P = 0.002$). There had no statistically significance of the two group's expression intensity ($F = 1.175, P = 0.424$); the positive rate in

advanced pterygium group was higher than in quiescent pterygium group ($\chi^2 = 11.140, P = 0.001$). The expression intensity had no statistically significance between the two groups ($F = 0.665, P = 0.621$).

• **CONCLUSION:** The expression of TNF- α and P55 are changing according to the development of clinical staging and onset. The expression of TNF- α and P55 may be related to clinical classification, staging and patient's working conditions of pterygium. There has no significant difference expression intensity of TNF- α and P55 in clinical staging and onset of pterygium.

• **KEYWORDS:** pterygium; tumor necrosis factor- α ; tumor necrosis factor receptor

Citation: Wu B, Yang J, Wei J, et al. Expression of tumor necrosis factor- α and receptor I (P55) in pterygium. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2014;14(6):1000-1004

摘要

目的: 检测不同翼状胬肉组织中肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 及其 I 型受体 P55 的表达变化, 探讨 TNF- α 及 P55 在翼状胬肉发病机制中的作用。

方法: 免疫组织化学方法 (PV) 检测翼状胬肉 (72 眼) 及胬肉旁结膜组织 (30 眼) 中 TNF- α 及其受体 P55 的表达, 分析与翼状胬肉临床病理特征的关系。

结果: TNF- α 在翼状胬肉和胬肉旁结膜组织中的阳性表达率分别为 65.3% (47/72), 26.7% (8/30), 差异有显著统计学意义 ($\chi^2 = 12.706, P < 0.01$)。P55 在翼状胬肉和胬肉旁结膜组织中的阳性表达率分别为 56.9% (41/72) 及 16.7% (5/30), 差异有显著意义 ($\chi^2 = 13.875, P < 0.01$)。TNF- α 在复发性胬肉的阳性表达率高于初发性胬肉 ($\chi^2 = 6.547, P = 0.011$), 表达强度差异比较无统计学意义 ($F = 1.288, P = 0.393$); 进展期胬肉阳性表达率高于静止期胬肉 ($\chi^2 = 4.082, P = 0.043$), 表达强度比较无统计学意义 ($F = 0.489, P = 0.708$)。P55 在复发性胬肉的阳性表达率高于初发性胬肉 ($\chi^2 = 9.907, P = 0.002$), 表达强度比较无统计学意义 ($F = 1.175, P = 0.424$); 进展期胬肉的阳性表达率明显高于静止期胬肉 ($\chi^2 = 11.140, P = 0.001$), 表达强度比较无统计学意义 ($F = 0.665, P = 0.621$)。

结论: TNF- α 及 P55 在翼状胬肉中的阳性表达率随着发病状态和临床分期的进展而变化。TNF- α 及 P55 表达与临床分类、临床分期、患者工作生存状况相关。TNF- α 及 P55 在翼状胬肉不同发病状态及临床分期的表达强度无明显差异。

关键词: 翼状胬肉; 肿瘤坏死因子; 肿瘤坏死因子受体
DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2014.06.05

引用: 吴兵, 杨建, 魏谨, 等. TNF- α 及其 I 型受体 (P55) 在翼状胬肉中的表达. 国际眼科杂志 2014;14(6):1000-1004

0 引言

翼状胬肉是眼科常见的眼表疾病。以往关于翼状胬肉的研究多集中在手术方法的改进方面,近来随着分子生物学的发展,翼状胬肉发病机制的研究日益得到关注,学者们进行了一些研究并提出了相关学说,比如氧化损伤学说^[1]、免疫学说^[2]、角膜缘干细胞功能障碍学说^[3]、基因突变学说^[4]、细胞调控凋亡学说^[5]等,最近也有研究认为人乳头状瘤病毒与翼状胬肉有一定的关系^[6]。学者们达成一定的共识,认为翼状胬肉的形成是多因素参与下的复杂病理过程,但其确切发病机制仍不甚清楚。本实验检测 TNF- α 及其受体 P55 在不同翼状胬肉组织中的表达变化,观察表达强度的差异,与胬肉旁结膜组织比较,探讨两者在翼状胬肉发病机制中的作用及相关性,为临床探索翼状胬肉新的治疗方法提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 病例来源 选取 2012-08/2013-05 我院眼科确诊为翼状胬肉并接受胬肉切除手术的病例 72 例 72 眼,均选择单眼发病病例,其中男 33 眼,女 39 眼;左眼 24 眼,右眼 48 眼;年龄 36~72(平均 54.7)岁;手术方法为显微镜下翼状胬肉切除+自体球结膜游离移植术^[7]。标本分组:(1)发病状态分类:初发性翼状胬肉 43 眼,复发性翼状胬肉 29 眼;(2)临床分期:静止期胬肉 53 眼,进展期胬肉 19 眼;(3)对照组:选取 30 眼翼状胬肉患者,手术过程中一并采集胬肉旁结膜组织,范围 3mm \times 3mm。考虑到对照组标本的取材会导致创面稍大于原手术范围,经我院伦理委员会审批后备案,30 眼患者术前告知取材目的,注明配合实验,签订手术同意书。为排除使用不同药物对实验结果的影响,所有病例术前用药统一标准,以妥布霉素滴眼液 3 次/d \times 3d。

1.1.2 主要试剂 英国 Abcam 公司生产兔抗人 TNF- α 多克隆抗体(ab6671,原液配比浓度 1:200);英国 Abcam 公司生产兔抗人 TNF R1(P55)多克隆抗体(ab64006,1:250);DAB 显色剂(ZLI-9019);Citrate 柠檬酸盐缓冲液(ZLI-9065);PV-9000 试剂盒(Polymer Kit)。

1.2 方法

1.2.1 实验方法 免疫组织化学 PV-9000 二步法。切取标本用 10% 福尔马林液固定,制作组织蜡块。4 μ m 连续切片,置于 45 $^{\circ}$ C 恒温水中展片,载玻片(经多聚赖氨酸处理)捞片,放置入烤箱烤片,时长 120min,维持温度 62 $^{\circ}$ C。切片脱蜡复水,用蒸馏水洗 3 次,每次 2min。高压抗原修复过程:抗原修复液 2500mL 加入不锈钢压力锅中加热至沸腾,切片放置于切片架,将切片架放入高压锅内,全部浸入修复液中,盖锅压阀加热至压力锅开始喷气,持续 3min,将高压锅脱离热源,以冷水冲至室温,打开锅盖取切片,用蒸馏水洗 2min \times 3 次,再用 PBS 洗 2min \times 3 次。以 3% H₂O₂ 室温孵育切片 10min,用以消除内源性过氧化物酶的活性,以 PBS 液洗 2min \times 3 次。分别滴加一抗(TNF- α 和 P55),以 PBS 液代替一抗做对照,37 $^{\circ}$ C 孵育,时长 90min。以 PBS 液冲洗切片 2min \times 3 次,滴加适量二抗工作液,37 $^{\circ}$ C 孵育 20min。以 PBS 液冲洗 2min \times 3 次,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉素卵白素工作液,37 $^{\circ}$ C 孵育 30min。PBS 液冲洗 2min \times 3 次,滴加 DAB 显色剂,室温下显色,显微镜下控制时间。自来水充分冲洗切片,用苏木素复染 30s,1% 盐酸酒精分化、酒精脱水,以二甲苯透明、封片。

1.2.2 结果判读 以组织切片中出现棕黄色或棕褐色颗粒为阳性指标。采用 Frank 等提出的半定量积分方法,将阳性细胞染色强度和细胞所占百分比分别进行分级计分,高倍镜下随机选择 5 个视野,无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分;阳性细胞 \leq 5% 为 0 分,6%~25% 为 1 分,26%~50% 为 2 分,51%~75% 为 3 分, \geq 75% 为 4 分;两者结果相乘,0 分为(-),1~4 分为(+),5~8 分为(++),9~12 分为(+++)。

统计学分析:采用 SPSS 19.0 统计分析软件进行数据分析处理^[8]。TNF- α 及 P55 阳性率的比较采用四格表 χ^2 检验;TNF- α 及 P55 表达与翼状胬肉临床病理特征关系的分析采用 χ^2 检验;TNF- α 及 P55 表达强度的比较用单因素方差分析法。以 $P < 0.05$ 为结果具有统计学意义; $P < 0.01$ 为结果具有显著统计学意义。

2 结果

2.1 TNF- α 及 P55 在翼状胬肉与胬肉旁结膜组织中的表达情况 TNF- α 表达部位多见于结膜上皮细胞基底膜和胞浆(图 1,2),在翼状胬肉组织中的阳性表达率为 65.3% (47/72),在胬肉旁结膜组织中的表达率为 26.7% (8/30),与胬肉旁结膜组织相比较,TNF- α 在翼状胬肉中表达的阳性率差异具有显著意义($\chi^2 = 12.706, P < 0.01$)。P55 表达部位多见于基底细胞膜和细胞间质(图 3),在翼状胬肉组织中的阳性表达率为 56.9% (41/72),胬肉旁结膜组织中的表达率为 16.7% (5/30),实验结果显示与胬肉旁结膜组织相比,P55 在翼状胬肉表达阳性率差异具有显著意义($\chi^2 = 13.875, P < 0.01$)。

2.2 TNF- α 及 P55 表达与翼状胬肉发病状态的关系

TNF- α 在复发性胬肉的阳性表达率高于初发性胬肉($\chi^2 = 6.547, P = 0.011$)。表达强度以半定量积分方法计算结果为:初发性翼状胬肉(-)20 眼,(+)13 眼,(++)6 眼,(+++4 眼;复发性翼状胬肉(-)5 眼,(+)12 眼,(++)9 眼,(+++3 眼。单因素方差分析 $F = 1.288, P = 0.393$,故认为 TNF- α 在翼状胬肉不同发病状态表达强度的差异无统计学意义($P > 0.05$)。P55 在复发性胬肉的阳性表达率高于初发性胬肉($\chi^2 = 9.907, P = 0.002$),表达结果为:初发性翼状胬肉(-)25 眼,(+)10 眼,(++)6 眼,(+++2 眼;复发性翼状胬肉(-)6 眼,(+)13 眼,(++)3 眼,(+++7 眼,单因素方差分析 $F = 1.175, P = 0.424$,提示 P55 在不同发病状态的翼状胬肉组织中表达强度的差异无统计学意义。

2.3 TNF- α 及 P55 表达与翼状胬肉临床分期的关系

TNF- α 在进展期胬肉阳性表达率高于静止期胬肉($\chi^2 = 4.082, P = 0.043$),表达强度以半定量积分方法计算结果为:静止期翼状胬肉(-)22 眼,(+)17 眼,(++)6 眼,(+++8 眼;进展性翼状胬肉(-)3 眼,(+)7 眼,(++)4 眼,(+++5 眼。单因素方差分析 $F = 0.489, P = 0.708$,提示 TNF- α 在翼状胬肉不同临床分期中表达强度的差异无统计学意义($P > 0.05$)。P55 在进展期胬肉的阳性表达率明显高于静止期胬肉($\chi^2 = 11.140, P = 0.001$),表达强度以半定量积分法计算结果为:静止期翼状胬肉(-)29 眼,(+)11 眼,(++)5 眼,(+++8 眼;进展期翼状胬肉(-)2 眼,(+)13 眼,(++)3 眼,(+++1 眼。单因素方差分析 $F = 0.655, P = 0.621$,提示 P55 在翼状胬肉不同分期中表达强度的差异无统计学意义。

2.4 TNF- α 表达与翼状胬肉临床病理特征的关系 TNF- α 在复发性胬肉的阳性表达率为 82.7% (24/29),初发性胬

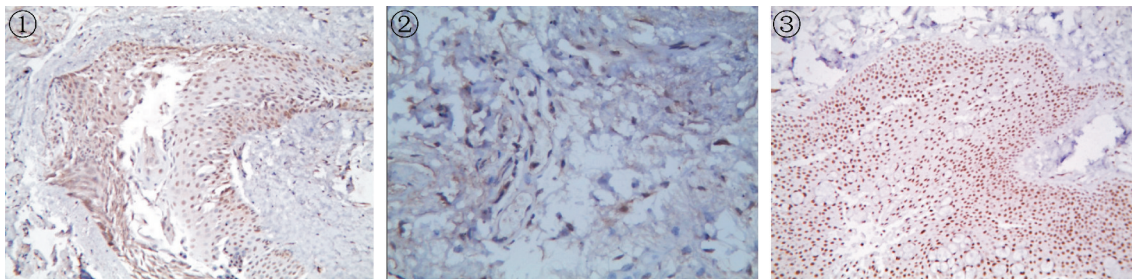


图1 TNF- α 在复发性翼状胬肉上皮中的阳性表达 (PV \times 200)。
 图2 TNF- α 在静止期翼状胬肉间质中的阳性表达 (PV \times 400)。
 图3 P55 在进展期翼状胬肉上皮中的阳性表达 (PV \times 200)。

表1 TNF- α 阳性表达与翼状胬肉临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	TNF- α 表达			χ^2	P
		阳性	阴性	阳性率(%)		
性别						
男性	33	21	12	67.7	0.072	0.788
女性	39	26	13	66.7		
年龄						
≤ 55 岁	31	19	12	61.3	0.382	0.537
>55 岁	41	28	13	68.3		
病程长短						
≤ 10 a	19	13	6	68.4	0.113	0.737
>10 a	53	34	19	64.1		
眼别						
左眼	24	16	8	66.7	0.031	0.861
右眼	48	31	17	64.6		
工作环境						
户内	25	8	17	32.0	18.710	0.001
户外	47	39	8	82.9		
临床分类						
原发性胬肉	43	23	20	53.5	6.547	0.011
复发性胬肉	29	24	5	82.7		
临床分期						
静止期胬肉	53	31	22	58.5	4.082	0.043
进展期胬肉	19	16	3	84.2		

肉表达率为 53.5% (23/43), 两者比较差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 6.547, P = 0.011$), 提示 TNF- α 在翼状胬肉中的表达随发病状态的进展而上升; 在进展期胬肉的阳性表达率为 84.2% (16/19), 明显高于静止期胬肉 58.5% (31/53), 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 4.082, P = 0.043$), 提示 TNF- α 在翼状胬肉中的表达随临床分期的进展而上升; 在户外工作的患者 TNF- α 表达率为 82.9% (39/47), 户内工作的患者表达率为 32.0% (8/25), 差异有显著统计学意义 ($\chi^2 = 18.710, P < 0.01$), 提示接受紫外线照射促进了翼状胬肉组织中 TNF- α 的阳性表达。实验结果初步提示 TNF- α 表达与患者病程 ($\chi^2 = 0.113$)、眼别 ($\chi^2 = 0.031$)、性别 ($\chi^2 = 0.072$)、年龄 ($\chi^2 = 0.382$) 等基本因素无统计学相关 ($P > 0.05$, 表 1)。

2.5 P55 表达与翼状胬肉临床病理特征的关系 P55 在复发性胬肉的阳性表达率为 79.3% (23/29), 高于原发性胬肉表达率 41.9% (18/43), 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 9.907, P = 0.002$), 提示 P55 在翼状胬肉中的表达随发病状态的进展而上升; 在进展期胬肉的阳性表达率为

89.5% (17/19), 明显高于静止期胬肉 45.3% (24/53), 差异具有显著统计学意义 ($\chi^2 = 11.140, P = 0.001$), 提示 P55 在翼状胬肉中的表达随临床分期的进展而上升; 在户外工作的患者 P55 表达率为 72.3% (34/47), 户内工作的患者表达率为 28.0% (7/25), 差异有显著统计学意义 ($\chi^2 = 13.087, P < 0.01$), 提示接受紫外线照射促进了翼状胬肉组织中 P55 的表达。本实验也同样发现 P55 表达与患者病程 ($\chi^2 = 0.196$)、眼别 ($\chi^2 = 0.113$)、性别 ($\chi^2 = 0.010$)、年龄 ($\chi^2 = 0.631$) 等基本因素无统计学相关 ($P > 0.05$, 表 2)。

3 讨论

TNF- α 是 P53 下游物质, 主要由巨噬细胞产生, 其它组织细胞也可产生一定量的 TNF- α 。TNF- α 是多种细胞因子网络的中心因子, 具有多种生物学作用, 参与机体细胞增殖与凋亡、促发炎症反应、调控其它细胞因子的作用、抗感染、调节免疫应答等, 与机体多系统肿瘤的发生有关。

关于 TNF- α 在翼状胬肉发生发展中的作用, 国内外学者做了一些研究。程钰等^[9]认为 TNF- α 和 IL-6 是 P53 下游物质, 突变型 P53 基因在翼状胬肉中高表达致

表 2 P55 阳性表达与翼状胬肉临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	P55 表达			χ^2	P
		阳性	阴性	阳性率(%)		
性别						
男性	33	19	14	57.6	0.010	0.921
女性	39	22	17	56.4		
年龄						
≤55 岁	31	16	15	51.6	0.631	0.427
>55 岁	41	25	16	61.0		
病程长短						
≤10a	19	10	9	52.6	0.196	0.658
>10a	53	31	22	58.5		
眼别						
左眼	24	13	11	54.2	0.113	0.736
右眼	48	28	20	58.3		
工作环境						
户内	25	7	18	28.0	13.087	0.000
户外	47	34	13	72.3		
临床分类						
初发性胬肉	43	18	25	41.9	9.907	0.002
复发性胬肉	29	23	6	79.3		
临床分期						
静止期胬肉	53	24	29	45.3	11.140	0.001
进展期胬肉	19	17	2	89.5		

TNF- α 和 IL-6 含量增多,两者的分泌量反馈信息可产生自我调节。此外,机体多种调节物质参与 TNF- α 分泌,Liu 等^[10]实验发现 IL-17F 复性和纯化后,该重组蛋白可以向上调节巨噬细胞分泌 TNF- α 、IL-6 和其他相关的细胞因子。TNF- α 、IL-6 是一种重要的炎症因子,能促进纤维母细胞的增殖和新生血管的形成,而纤维母细胞、弹性纤维、胶原纤维的增殖反之又能促进 TNF- α 和 IL-6 的分泌,形成恶性循环,从而促进翼状胬肉的发展。Hong 等^[11]研究发现 TNF- α 可促进翼状胬肉纤维组织中众多神经因子特别是睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor,CNTF)高表达,从而引发一系列结膜上皮纤维增殖、血管新生的病理过程。

翼状胬肉组织病理表现为结膜纤维细胞增生、新生血管形成,与眼表慢性炎症状态下的细胞增殖/凋亡失衡、多种细胞因子共同作用有关。我们的实验结果表明,TNF- α 在翼状胬肉组织中高表达,在进展期胬肉和复发性胬肉中表达比例明显增高,表达部位多见于结膜上皮细胞基底膜和胞浆,提示 TNF- α 参与翼状胬肉发生发展的整个病理过程。因此,我们大胆推测 TNF- α 作为细胞因子网络的非特异性炎症因子,在翼状胬肉病程的进展和复发中起了重要的作用。TNF- α 通过促使 IL-6 等炎性因子发生作用而促进局部炎症反应,诱导细胞表达组织相容性抗原,诱导人体组织细胞产生 VEGF, bFGF, PDGF, TGF- β 等生长因子,在结膜细胞表面黏附分子的参与下,多因素共同作用促使角结膜上皮细胞凋亡程序失控、增殖大于凋亡,成纤维细胞和血管新生,基质增生肥厚,从而促进了翼状胬肉的发生发展。但 TNF- α 在翼状胬肉不同发病状态和

临床分期的表达强度无明显差异,我们就此推测 TNF- α 对翼状胬肉的促进作用可能与 TNF- α 的含量无关,可能 TNF- α 是翼状胬肉发病机制中重要的细胞因子但不是主要的细胞因子,得到以上结论可能与本次实验样本量偏少有关。

我们的实验结果表明 P55 在翼状胬肉中有不同比例的表达,尤其在进展期胬肉和复发性胬肉中高表达,表达部位多位于基底细胞膜和间质,P55 是 TNF- α 的 I 型受体,TNF- α 具有多种生物学作用,P55 介导了 TNF- α 的大多数功能。P55 受 TNF- α 刺激,与之特异性结合,通过一系列复杂的信号转导过程发挥生物学作用,我们得到的实验数据显示 P55 的阳性表达率也是随着翼状胬肉发病状态和临床分期的进展而上升,这进一步印证了 P55 作为 TNF- α 发挥功能的主要受体,协同促进了 TNF- α 生物学效应的表达。在翼状胬肉组织中,TNF- α 由激活的单核巨噬细胞大量产生,与细胞膜表面的两型受体相结合,TNF- α 生物学作用主要由含有死亡结构域的 P55 介导。TNF- α 与 P55 结合后形成活化三聚体,诱导 P55 死亡结构域 DD 结合激活 Fas 相关死亡结构域 FADD,激活的 FADD 活化 FADD 样 ICE 蛋白酶(FLICE),Caspase-8,Caspase-3,Caspase-6,Caspase-7 次第活化^[12];促使 NF- κ B 活化^[13],调控多种凋亡相关基因,促凋亡基因作用小于抑制基因;TNF 受体相互作用蛋白激活产生级联反应等^[14],多种 TNF- α 与受体结合的信号转导途径在眼表产生效应,最终导致正常结膜细胞的凋亡,细胞凋亡与增殖比例失调,成纤维细胞增殖、血管新生,结膜结缔组织重构,翼状胬肉发生与发展。实验结果也表明 P55 在翼状胬肉不

同发病状态分类和临床分期的表达强度无明显差异,因此我们推测 P55 功能的表达可能与含量无明显关系, TNF- α 信号的传递和生物学效应的产生可能与受体的数目无关,这个结果的获得可能与样本量偏少有关,留待后续的实验进一步探讨。

我们的实验初步探讨了 TNF- α 与 P55 在翼状胬肉发生发展中的作用及相关性,但具体介导的信号转导通路的机制目前仍不甚明确,有待于后续的一步研究。如何有效调控 TNF- α /P55 通路,从而调控结膜细胞的增殖与凋亡、抑制翼状胬肉纤维组织增生和新生血管形成,可能是预防、治疗和减少翼状胬肉术后复发的根本方法。

参考文献

- 1 Ucakhan OO, Kanpolat A, Elgün S, *et al.* The role of oxidative mechanisms in the etiopathogenesis of pterygium; a preliminary study. *Ophthalmological* 2009;223(1):41-46
- 2 Tsironi S, Ioachim E, Machera M, *et al.* Presence and possible significance of immunohistochemically demonstrable metallothionein expression in pterygium versus pinguecula and normal conjunctiva. *Eye* 2001;15(1):89-96
- 3 Coroneo MT, Girolamo ND, Wakefield D. The pathogenesis of pterygia. *Curr Opin Ophthalmol* 1999;10(4):282-288
- 4 Kalay E, Sezgin O, Chellappa V, *et al.* Mutations in RIPK4 cause the autosomal-recessive form of popliteal pterygium syndrome. *Am J Hum Genet* 2012;90(1):76-85
- 5 Liang K, Jiang Z, Ding B, *et al.* Expression of cell proliferation and apoptosis biomarkers in pterygia and normal conjunctiva. *Mol Vis* 2011;17:1687-1693

- 6 Tsai Y, Chang C, Chiang C, *et al.* HPV infection and p53 inactivation in pterygium. *Mol Vis* 2009;15:1092-1097
- 7 Kheirkhah A, Adelpour M, Nikdel M, *et al.* Evaluation of conjunctival graft thickness after pterygium surgery by anterior segment optical coherence tomography. *Curr Eye Res* 2011;36(9):782-786
- 8 Nancy L, Leech, Karen C, *et al.* SPSS 统计应用与解析(第三版). 电子工业出版社 2009
- 9 程钰,高伟,朱海峰. 复发性翼状胬肉 IL-6 与 TNF- α 的表达研究. 延安大学学报(医学科学版) 2012;10(2):1-3
- 10 Liu G, Wu H, Li L, *et al.* Prokaryotic expression and biological activity of recombinant human IL-17F/His protein. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2011;27(3):263-269
- 11 Hong S, Choi JY, Lee HK, *et al.* Expression of neurotrophic factors in human primary pterygeal tissue and selective TNF- α -induced stimulation of ciliary neurotrophic factor in pterygeal fibroblasts. *Exp Toxicol Pathol* 2008;60(6):513-520
- 12 Harper N, Hughes M, MacFarlane M, *et al.* Fas-associated death domain protein and caspase-8 are not recruited to the tumor necrosis factor receptor 1 signaling complex during tumor necrosis factor-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2003;278(28):25534-25541
- 13 Chang E, Ha J, Kang S, *et al.* AWP1 binds to tumor necrosis factor receptor-associated factor 2 (TRAF2) and is involved in TRAF2-mediated nuclear factor- κ B signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2011;43(11):1612-1620
- 14 Jackson-Bernitsas DG, Ichikawa H, *et al.* Evidence that TNF-TNFR1-TRADD-TRAF2-RIP-TAK1- IKK pathway mediates constitutive NF- κ B activation and proliferation in human head and neck squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2007;26(10):1385-1397